

伴 SPTB 基因 p. E1135X 突变的遗传性球形红细胞增多症 1 例并文献复习

张启国¹ 金其川¹ 宫文玉¹ 凌春¹

[关键词] 遗传性球形红细胞增多症; Gilbert 综合征; 黄疸; SPTB 基因; 分子诊断

DOI: 10.13201/j.issn.1004-2806.2021.01.014

[中图分类号] R555.1 [文献标志码] D

Hereditary spherocytosis from a Chinese family with p. E1135X mutation of SPTB gene: a case report and literature review

Summary To improve the knowledge of hereditary spherocytosis(HS)with novel SPTB mutation and facilitate the molecular diagnosis in intractable cases, we reported the diagnosis and treatment process of a patient of HS from a Chinese family with severe jaundice but without anemia, and reviewed related literatures. This patient was a 16-year old male whose prominent manifestation was severe jaundice and pathological features of hepatic puncture was consistent with Gilbert syndrome. Further examinations showed that UGT1A1 gene mutation was negative. Spherocytes were observed in the peripheral smear with increased incubated osmotic fragility. A novel mutation of SPTB gene, the substitution of c. 3403G>T in exon 15, was identified in the patient and his father. After splenectomy, the patient's jaundice eased rapidly. This case report suggests that a novel SPTB mutation (NM_001024858, c. 3403G>T, Exon15) is potentially associated with HS, and molecular diagnosis is of clinical significance for the accurate identification of atypical HS cases.

Key words hereditary spherocytosis; Gilbert syndrome; jaundice; SPTB gene; molecular diagnosis

遗传性球形红细胞增多症(hereditary spherocytosis, HS)是一组高度异质性疾病,由编码红细胞膜和细胞骨架蛋白的某些基因发生突变所致,其中最常见的是血影蛋白(SPTA1 和 SPTB 基因)、锚蛋白(ANK1 基因)和带 3 蛋白(SLC4A1 基因)突变。上述突变降低了将红细胞内膜骨架与脂质双层的外层相连接的蛋白质的水平,继而导致红细胞膜微囊泡形成、红细胞逐渐变为球形。球形红细胞易致溶血,机制包括红细胞变形性降低以及脾脏巨噬细胞的吞噬作用,血影蛋白的丢失似乎与溶血的严重程度特别相关^[1]。HS 诊断和处理的指南中指出 SPTB 基因、ANK1 基因、SLC4A1 基因常见

于常染色体显性遗传的 HS,新型 SPTB 基因、ANK1 基因突变则多见于常染色体隐性遗传的患者,因此 HS 的研究仍面临诸多挑战^[2]。中国人群有独特的 HS 突变谱,SPTB 占 45%,ANK1 占 45%,SLC4A1 占 10%,所有突变均为非再现的,但每一个突变对特定家庭成员是独特的,并且对大多数中国人群特异^[3]。在某些患者,相关基因的多个突变可产生协同或抑制效应,导致复杂的 HS 病理发生。若 HS 合并 Gilbert 综合征时能够导致基因型和表型的明显不一致性,引起高漏诊率,甚至临床 HS 患者的误诊。本文对 1 例伴新型 SPTB 基因(c. 3403G>T)杂合突变的 HS,患者存在严重黄疸却无贫血,最终综合临床、实验室和分子测序 UGT1A1 和遗传性红细胞增多基因组合明确了诊断,现报告如下。

¹安徽医科大学滁州临床学院(滁州市第一人民医院)血液科(安徽滁州,239000)
通信作者:张启国, E-mail: qgzhang8@sina.com

[11] Efficacy and Safety of AZA in Combination with the Anti-PD-L1 Durvalumab for the Front-Line Treatment of Older pts with AML Who Are Unfit for Intensive Chemotherapy(IC) and Pts with Higher-Risk Myelodysplastic Syndromes(HR-MDS): Results from a Large, International, Randomized Phase 2 Study[J]. Blood, 2019, 134(Supplement_1): 829.
[12] Gerds AT, Scott BL, Greenberg PL, et al. PD-L1 Blockade with Atezolizumab in Higher-Risk Myelodysplastic Syndrome: An Initial Safety and Efficacy Analysis[J]. Blood, 2018, 132(Supplement 1): 466.

[13] Shi Y, Su H, Song Y, et al. Safety and activity of sintilimab in patients with relapsed or refractory classical Hodgkin lymphoma (ORIENT-1): a multicentre, single-arm, phase 2 trial[J]. Lancet Haematol, 2019, 6(1): e12-e19.
[14] Liao D, Wang M, Liao Y, et al. A Review of Efficacy and Safety of Checkpoint Inhibitor for the Treatment of Acute Myeloid Leukemia[J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 609.

(收稿日期: 2020-08-11)

1 病例资料

患者,男,16岁,因全身皮肤发黄9个月,加重伴眼黄7个月余入院。体检:无贫血貌,皮肤黏膜及巩膜黄染,两肺呼吸音清,未闻及干湿啰音。心率85次/min,律齐,各瓣膜区未闻及病理性杂音。腹软,肝肋下未及,脾肋下4cm,质地中等。当地医院查谷丙转氨酶、谷草转氨酶正常,总胆红素86 μmol/L,间接胆红素64 μmol/L,予以保肝治疗无明显改善。其后多次复查胆红素:总胆红素波动在63~100 μmol/L,间接胆红素波动在37.0~85.6 μmol/L。饥饿试验后复查肝功能:总胆红素137.4 μmol/L,直接胆红素24.0 μmol/L,余指标正常。WBC 6.4×10⁹/L,Hb 140 g/L,PLT 205×10⁹/L。肝炎全套、自身抗体、抗中性粒细胞胞质抗体、HBV-DNA测定、EBV-DNA、CMV-DNA、传染病8项检测和铜兰蛋白未见异常。外院查MRCP示:胆胰管未见明显异常;脾稍大;胆囊壁稍增厚。肝脏CT平扫+增强:肝脏、脾脏肿大,建议随访。B超引导下肝穿刺活检病理:见条索样组织2枚,长1.3~1.5cm,直径0.1cm。肝组织内可见汇管区8个,肝板排列较规则,肝细胞无明显水肿,中央静脉周围肝细胞轻-中度胆汁淤积和小泡性脂肪变性,汇管区无明显扩张,其内未见明显炎症细胞浸润。免疫组织化学:胆管表达CK7(++)、CK19(++);毛细胆管表达CD10(+++);肝细胞表达HBsAg(-)、HbcAg(-);肝窦周围表达SMA(+);组织细胞表达CD68(++)。特殊染色:Masson(+),网染(+++),PAS(+),PASD(+/-)。结合临床病史考虑:①轻度瘀胆性改变(F0,G1,S0);②可符合Gilbert综合征组织学改变,建议临床排除药物性肝损伤和肝血管性病变(如门静脉或肝动脉梗阻)。曾就诊于消化科考虑Gilbert综合征。血液科会诊血常规:WBC 9.11×10⁹/L,PLT 203×10⁹/L,Hb 150 g/L,MCV 78.3 fl(82.0~97.0),MCHC 387 g/L(320~360),RDW 18.7%(0~15.0%),网织红百分比5.24%(0.8%~2.0%),网织红绝对值259.00×10⁹/L(24.0×10⁹/L~84.0×10⁹/L),网织红细胞血红蛋白含量31.8 pg(29.0~35.0)。血涂片示:红细胞大小形态不等,可见大红细胞,球形红细胞占5%。溶血性贫血筛查全套包括抗碱血红蛋白测定、血红蛋白A2、异丙醇试验、微量血红蛋白电泳、红细胞渗透脆性试验、高铁血红蛋白还原试验、葡萄糖6-磷酸脱氢酶荧光斑点试验、变性珠蛋白小体测定、血红蛋白H包涵体检测均未见异常。Coomb's分型试验(-),其中IgG、IgA、IgM、C3d、C3c均阴性,CD55、CD59表达正常,尿含铁血黄素试验(-)。铁蛋白96.60 ng/ml。生化:乳酸脱氢酶288 U/L,总胆红素118.3 μmol/L(5.1~22.2),直接胆红素27.8 μmol/L(0.0~6.8)。血浆游离血

红蛋白8.6 mg/dL(0~5)。为排除Coomb's阴性的自身免疫溶血性贫血,曾给予泼尼松1 mg/kg诊断性治疗3周,期间胆红素仍进行性增高,总胆红素高达132.7 μmol/L,后停服激素。做孵育红细胞渗透脆性试验:①对照(开始溶血)0.44%,患者(开始溶血)>0.60%;②对照(完全溶血)0.28%,患者(完全溶血)0.28%。鉴于存在溶血性贫血客观依据,遂行腹腔镜下脾脏切除术。脾脏术后病理:红髓轻度扩张,脾窦充血,脾索纤维组织增生。切脾后5天,胆红素迅速降低至接近正常。外周血UGT1A1基因检测未发现基因外显子及侧翼序列有意义突变。遗传性红细胞增多症组套:血样本检测到SPTB基因有1个杂合突变,NM_001024858,位于外显子15,c.3403G>T(编码区第3403号核苷酸由鸟嘌呤变异为胸腺嘧啶),导致氨基酸改变p.E1135X(无义突变),为杂合突变,该突变目前未见文献报道。患者父亲既往有脾大、脾切除史,进一步检查其父亲有HS证据且分子诊断存在上述相同SPTB杂合变异,母亲正常(图1)。患者最终临床确诊为HS。切脾后随访至今,目前临床状况及实验指标改善良好(表1)。

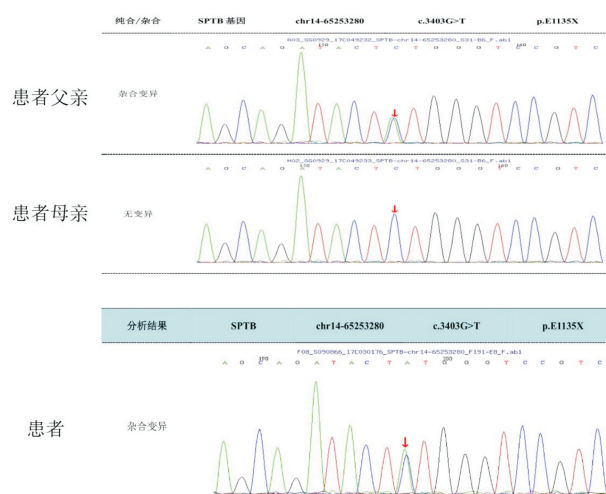


图1 患者家属测序结果发现患者及其父亲存在相同SPTB杂合突变

2 讨论

HS是一种世界性分布和最常见遗传性贫血,以北欧、北美洲多发,发病率分别为1/5000、1/2000。中国缺乏准确的流行病学资料,预测发病率为1.39/10万,较国外显著少见^[4]。HS的主要发病机制是编码连接红细胞内在膜骨架与外在脂质双层的蛋白异常,导致红细胞的膜稳定性下降,球形红细胞形成,脾脏反复破坏导致溶血性贫血。5种基因与HS有关,分别为α血影蛋白(SPTA1)、β血影蛋白(SPTB)、锚蛋白(ANK1)、带3蛋白(SLC4A1)或蛋白4.2(EPB42)。当≥1种HS相关基因突变就能引起红细胞膜蛋白缺陷从而导致HS^[5]。

表 1 先证者血液学部分实验指标

指标	患者		父亲	母亲	参考值范围
	切脾前	切脾后			
WBC/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	7.8	9.4	4.8	6.0	3.5~9.5
Hb/($g \cdot L^{-1}$)	150	151	136	136	130~175
MCV/fl	78.3	78.8	85.7	92.4	82~100
MCH/pg	30.3	26.9	29.4	30.5	27~34
MCHC/($g \cdot L^{-1}$)	393	342	347	330	316~354
RDW/%	18.7	15.7	15.5	13.5	10~18
网织红/%	5.24	0.49	4.23	0.79	0.5~1.5
PLT/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	203	825	169	206	125~350
总胆红素/($\mu mol \cdot L^{-1}$)	118.3	22.9	44.2	14.9	5.1~22.3
直接胆红素/($\mu mol \cdot L^{-1}$)	27.8	13.2	15.6	4.9	0~6.8
乳酸脱氢酶/($U \cdot L^{-1}$)	288	146	228	125	0~250
球红/%	5	0.9	9	0	0
突变	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)

HS 从临床表现到实验室诊断指标均存在异质性,具体表现在多方面^[6-9]:①诊断时发病年龄跨度大:从宫内胎儿水肿到 80 多岁才得到诊断的都有;②临床表现:无症状到严重者危及生命,临床多以贫血、黄疸、脾大多见;③阳性家族史:单纯靠临床表现不易识别,也不是所有的患者都能够提供完整的家族史,部分患者是新发突变致病;④实验室多项检测指标并非总具诊断提示性:许多检测可用于证实 HS 的诊断,如酸化甘油裂解试验(acidified GLT, AGLT)、伊红-5-马来酰亚胺(eosin-5-maleimide, EMA)结合试验、“粉红试验”(pink test)和渗透脆性试验等。上述单项检测的敏感性在 AGLT 试验为 95%,EMA 结合试验为 93%,粉红试验为 91%,渗透脆性(孵育后)为 81%,渗透脆性(新鲜样本)为 68%,可见没有一项检测指标可识别所有的 HS;⑤发病率低,HS 在中国是罕见病;⑥HS 的基因突变谱,不同国家存在差异。鉴于上述种种原因,不典型 HS 在临床上极易误诊或漏诊。由于骨髓的代偿作用,红细胞的生成大于破坏,某些情况下并无贫血表现。该类患者若首次就诊于非血液科室,极易误诊。HS 的诊断标准如下:存在溶血但 Coomb's 试验结果阴性、MCHC 升高、HS 阳性家族史和(或)外周血涂片可见球形红细胞,然后通过一项或多项专业检测显示结果为阳性,如 AGLT、EMA 结合试验或渗透脆性试验等。高度疑似 HS 而 EMA 结合试验结果阴性或不明确的情况下,若准确诊断特别重要,例如已有过受累的子代病例,基因检测的阳性结果可视为 HS 的确诊依据^[10]。本文报道的这例以单纯重度胆红素增高为主要表现,不伴贫血,起初诊断为 Gilbert 综合征,因溶血性贫血证据明确加上温育后红细胞渗透脆性和分子诊断明确为 HS,有一定临床借鉴意义。本例 SPTB 基因有 1 个杂合突变,导致氨基酸

p. E1135X(无义突变),其父亲有球形红细胞增多症证据和切脾史,有相同基因突变,推测该 SPTB 突变为致病性的。

在分子水平证实红细胞膜病变的重要性不仅有助于患者的临床管理,还便于遗传咨询。深刻理解基因型-表现型二者的相关性对开展基于分子遗传学的 HS 临床实践具有重要作用。在 HS 中 ANK1 基因突变(高达 50%)最常见,其次为血影蛋白突变(SPTB 达 20%, SPTA1 达 5%),SLC4A1 达 15%,EPB42 达 10%^[11]。临床中对高胆红素血症与贫血程度不相称的 HS 患者,推荐排除 UGT1A1 缺陷引起的间接胆红素增高,因为 HS 和 UGT1A1 缺陷均为相对常见的间接胆红素增高原因,部分患者二者共存的情况下会干扰正确的诊断^[12-13]。本例患者有异常的高胆红素血症,曾考虑 Gilbert 综合征,但 UGT1A1 基因突变检测阴性并不支持,切脾后短期胆红素迅速恢复,也排除合并该病。

脾脏切除术是“症状性”HS 的有效治疗手段,过去发表的指南主要基于血红蛋白值来推荐行脾脏切除^[14]。HS 患者的疾病严重程度以血红蛋白值作为主要标准,把网织红数和胆红素值作为第二考虑因素,缺点是当血红蛋白值和网织红二者不一致时,疾病严重度的判断各异,本患者具有 HS 性状(按血红蛋白值分),轻度(按网织红数),重度(按胆红素值)。新修订版指南具有灵活性,切脾指征为:①HS 输血依赖或严重贫血;②中度 HS 患者需基于脾脏大小和生活质量指标个体化治疗^[15]。本患者重度黄疸,严重影响日常生活和人际交往,在内镜下行脾脏摘除术,术后胆红素迅速恢复正常,进一步支持 HS 的诊断。

综上所述,部分临床表现不典型发作的 HS 诊断具一定挑战性,伴新型 SPTB 突变(c. 3403G>

T)的 HS 可出现严重高胆红素血症与贫血程度不相称的临床表现,通过检测 UGT1A1 基因、遗传性红细胞增多基因组套可避免误诊和提高诊断效率、把握性和准确性,加强对 HS 病例基因型和表型的研究对开展 HS 的精准医疗和遗传学咨询具有临床意义。

参考文献

- [1] Agre P, Orringer EP, Bennett V. Deficient red-cell spectrin in severe, recessively inherited spherocytosis [J]. *N Engl J Med*, 1982, 306(19): 1155-1161.
- [2] He BJ, Liao L, Deng ZF, et al. Molecular genetic mechanisms of hereditary spherocytosis: Current perspectives[J]. *Acta Haematol*, 2018, 139(1): 60-66.
- [3] Wang R, Yang S, Xu M, et al. Exome sequencing confirms molecular diagnoses in 38 Chinese families with hereditary spherocytosis[J]. *Sci China Life Sci*, 2018, 61(8): 947-953.
- [4] Wang C, Cui YZ, Li Y, et al. A systematic review of hereditary spherocytosis reported in Chinese biomedical journals from 1978 to 2013 and estimation of the prevalence of the disease using a disease model[J]. *Intractable Rare Dis Res*, 2015, 4(2): 76-81.
- [5] Archana M, Agarwal, Roberto H, et al. Clinical utility of next-generation sequencing in the diagnosis of hereditary haemolytic anaemias [J]. *Br J Haematol*, 2016, 174(5): 806-814.
- [6] Mariani M, Barcellini W, Vercellati C, et al. Clinical and hematologic features of 300 patients affected by hereditary spherocytosis grouped according to the type of the membrane protein defect[J]. *Haematologica*, 2008, 93(9): 1310-1317.
- [7] Boguslawska DM, Heger E, Machnicka B, et al. A new frameshift mutation of the β -spectrin gene associated with hereditary spherocytosis [J]. *Ann Hematol*, 2017, 96(1): 163-165.
- [8] Perrotta S, Gallagher PG, Mohandas N. Hereditary spherocytosis [J]. *Lancet*, 2008, 372 (9647): 1411-1126.
- [9] 薛军. 努力提高“遗传性球形红细胞增多症”的诊断水平[J]. *临床血液学杂志*, 2020, 33(11): 742-745.
- [10] King MJ, Garcon L, Hoyer JD, et al. ICSH guidelines for the laboratory diagnosis of nonimmune hereditary red cell membrane disorders[J]. *Int J Lab Hematol*, 2015, 37(3): 304-325.
- [11] Shin S, Jang W, Kim M, et al. Targeted next-generation sequencing identifies a novel nonsense mutation in SPTB for hereditary spherocytosis. A case report of a Korean family[J]. *Medicine*, 2018, 97(3): e9677.
- [12] Yi Y, Dang X, Li Y, et al. Genetic diagnosis and pathogenic analysis of an atypical hereditary spherocytosis combined with UGT1A1 partial deficiency: A case report[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(1): 382-387.
- [13] Aiso M, Yagi M, Tanaka A, et al. Gilbert syndrome with concomitant hereditary spherocytosis presenting with moderate unconjugated hyperbilirubinemia [J]. *Intern Med*, 2017, 56(6): 661-664.
- [14] Iolascon A, Andolfo I, Barcellini W, et al. Recommendations for splenectomy in hereditary hemolytic Anemias [J]. *Haematologica*, 2017, 102(8): 1304-1313.
- [15] Roy SM, Buchanan GR, Crary SE. Splenectomy in children with "mild" hereditary spherocytosis [J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2013, 35(6): 430-433.

(收稿日期: 2019-02-11)